



TITLE:

膀胱腫瘍の酵素学的研究 2.膀胱癌組織におけるLactic Dehydrogenase,Alkaline Phosphatase活性ならびにLDH Isoenzymesと浸潤度および組織学的悪性度との相互関係について

AUTHOR(S):

石部, 知行; 仁平, 寛巳

CITATION:

石部, 知行 ...[et al]. 膀胱腫瘍の酵素学的研究 2.膀胱癌組織におけるLactic Dehydrogenase,Alkaline Phosphatase活性ならびにLDH Isoenzymesと浸潤度および組織学的悪性度との相互関係について. 泌尿器科紀要 1970, 16(2): 68-72

ISSUE DATE:

1970-02

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/121093>

RIGHT:

膀胱腫瘍の酵素学的研究

II. 膀胱癌組織における Lactic Dehydrogenase, Alkaline Phosphatase
活性ならびに LDH Isoenzymes と浸潤度および組織学的悪性度と
の相互関係について

広島大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 仁平寛巳教授)

石 部 知 行
仁 平 寛 巳

ENZYMOLOGICAL STUDY OF BLADDER TUMOR

II. LACTIC DEHYDROGENASE, ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY
AND LDH ISOENZYMES IN THE TISSUE OF BLADDER CANCER:
THE RELATIONS WITH STAGE AND HISTOLOGICAL GRADE

Tomoyuki ISHIBE and Hiromi NIHIRA

*From the Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine
(Chairman: Prof. H. Nihira, M. D.)*

Forty-four bladder specimens surgically removed, 28 obvious cancer and 16 tissues free of cancer as control, were submitted to quantitative study of LDH, LDH isoenzymes and alkaline phosphatase; and they were investigated as to stage (Jewett) and grade (Broders). The following results were obtained.

1) The bladder cancer tissues showed high LDH activity, which increased with advance of stage but was low contrarily in the undifferentiated carcinomas.

2) High percentage of LDH-V was proved in the cancer tissues as compared with the control, but there was no correlation with stage and grade. LDH-IV showed a similar tendency with LDH-V, and its ratio was higher in the undifferentiated carcinomas than in the differentiated. LDH-III showed lower percentage in the cancer tissues than in the control, and there was no correlation with stage and grade. LDH-II showed no difference as to presence of cancer or stage and grade. LDH-I in the cancer tissues were lower than in the control and decreased with advance of histological malignancy.

3) Alkaline phosphatase showed no difference between cancer and the control or among the various stages and grades.

悪性腫瘍組織では解糖系の変化が特有であることは Warburg ら (1924) の実験以来よく知られたところである。

LDH は解糖に関与する酵素であり、この酵素を対象として数多くの検討が行なわれてきた。また LDH には5つの isoenzymes のあることも知られ、これらの isoenzymes は4つの subunit を有している。

悪性腫瘍でみられる変化はその末期には血清中にも同様の変化をきたすにいたることが Berman (1957) らによって知られている。Starkweather ら (1962) は正常組織と腫瘍組織の LDH isoenzymes pattern の比較を行なっているが、組織化学的な研究を除けばなお泌尿器科領域での報告はすくない。そしてこれらの報告の多くが陰極例に向かっての移動する分画、す

なわちM型の増加がその腫瘍型に関係なく各種の悪性腫瘍組織に共通した変化であるとしてきた。これは悪性腫瘍組織では嫌気性解糖が主として行なわれるという Warburg ら (1924) の説を支持するものである。また Yasui ら (1965) は腫瘍周囲の異型性を示した部分では正常と悪性の中間の isoenzymes pattern を示すことを明らかにした。

ALP は多くの組織に存在する酵素であるが、泌尿器科領域では骨転移をきたしやすい前立腺癌で注目されている。しかし膀胱癌ではその報告は少なく、組織についてのそれも同様に少なく、まだその意義も明らかではない。

今回著者は膀胱癌組織を用いて LDH, LDH isoenzymes, ALP を対照部分と比較するとともに、病変の進展、組織型の変化との関係を検討したのでその成績を報告する。

実 験 法

広島大学医学部附属病院泌尿器科患者から得られた膀胱癌組織を用いて検討した。被検組織は解放性手術によって得られた腫瘍組織28例ならびにこれら症例の健常と目される膀胱粘膜16例を筋層内部を含んで用いた。これらの組織に4°Cで5倍量の生理食塩水を加え、ホモジナイザーを用いて磨砕したのち、3,000 r.p.m., 30分間遠沈して得た上清を実験に用いた。組織学的悪性度については H-E 染色によって Broders (1922) の分類を用い、また病期に関しては Jewett (1941) の分類に従った。それぞれの症例数は病期A~B 12例, C~D 16例, また悪性度Ⅰ~Ⅱ 6例, Ⅲ~Ⅳ 22例である。測定した酵素は lactic dehydrogenase (Iatron, Wroblewski unit/lg 湿重量), LDH isoenzymes (Wieme, %), alkaline phosphatase (石津, King-Armstrong unit/lg 湿重量) であり, LDH isoenzymes については陽極より数えて第Ⅰ~Ⅴ分画とした。

成 績

I. lactic dehydrogenase (LDH)

腫瘍部分は $9.5 \sim 228 \times 10^3 \text{Wu}$ に分布し、その平均は $76.6 \times 10^3 \text{Wu}$ を示したのに対し、対照部分では $9.6 \sim 118.5 \times 10^3 \text{Wu}$ に分布し、その平均は $38.9 \times 10^3 \text{Wu}$ を示した。すなわち腫瘍部分は対照部分に比し高い活性をその平均で有した。病期との関係をみると浸潤度A~Bでは $9.5 \sim 154.0 \times 10^3 \text{Wu}$ に分布したのに対し、C~Dでは $10 \sim 228 \times 10^3 \text{Wu}$ に分布し、その平

均はそれぞれ $68.1 \times 10^3 \text{Wu}$, $82.9 \times 10^3 \text{Wu}$ であり、病変の進展に伴う活性の増大がみられた。組織学的悪性度との関係をみると分化度Ⅰ~Ⅱでは $16.5 \sim 154 \times 10^3 \text{Wu}$ にあり、その平均は $94.0 \times 10^3 \text{Wu}$ を示したのに対し、Ⅲ~Ⅳでは $9.5 \sim 228 \times 10^3 \text{Wu}$ に分布し、平均 $68.5 \times 10^3 \text{Wu}$ と分化型に比し未分化型では平均すると活性の低下がみられた。

II. LDH isoenzymes

第Ⅴ分画についてみると対照部分は0~11.3%にあり、その平均は2.2%であったのに対し、腫瘍部分は0~37.8%と広い範囲に分布するとともに、その平均でも7.6%と、対照に比し明らかに高い割合を示すものが多かった。病期との関係をみるとA~Bでは2.6~7.1%に分布し、平均5.5%であったのに対し、C~Dでは0~37.8%に分布し、平均8.7%とその進展に伴って第Ⅴ分画の占める割合が増大したが、37.8%を示した1例を除けば病期の進展に伴うこの分画比の変動は少なく、またC~Dでも0%を示すものが16例中4例25.0%とかなりの頻度にみられた。Broders の分類による比較を行なうと分化度Ⅰ~Ⅱでは5.6~7.1%に分布し、平均6.4%を示し、Ⅲ~Ⅳでは0~37.8%に分布し、平均7.8%とやはり未分化型のものでは第Ⅴ分画比の増大がみられたが、浸潤度の場合と同様37.8%を占めた1例を除けば分化型と未分化型との間における差は少なかった。

第Ⅳ分画についてみると対照部分は0~41.7%に分布し、その平均が21.7%を示したのに対し、腫瘍部分は8.9~44.9%に分布し、平均26.0%を示した。病期についてみるとA~Bでは13.0~34.6%に、またC~Dでは8.9~44.9%にあり、その平均はそれぞれ22.1%, 28.2%を示した。また悪性度との関係をみるとⅠ~Ⅱでは13.0~22.4%に分布し、平均17.7%を示したのに対し、Ⅲ~Ⅳでは8.9~44.9%に分布し、平均27.9%を示し未分化型ではこの分画比の増大がみられ、この分化度に伴う変化は病期に伴うそれより大であった。

第Ⅲ分画についてみると対照部分は18.2%より55.5%に分布し、その平均は41.6%を示したのに対し、腫瘍組織では24.3%より58.6%に分布し、その平均は37.0%と腫瘍部分は対照部分に比し低い割合を示した。病期との関係をみるとA~Bでは24.3%より51.3%にあり、その平均は36.5%, C~Dでは26.4%より56.8%に分布し、その平均は37.3%を示した。また分化度についてみるとⅠ~Ⅱでは33.6%より37.1%に分布し、平均35.3%を占めたのに対し、Ⅲ~Ⅳでは24.3%より56.8%に分布し、その平均は37.4%を占めた。

Table 1 Mean value of tissue enzyme levels in vesical carcinoma

Group	LDH $\times 10^3$ wu	ALP, KAU
Control	38.9(2.7-118.5)	315.1(34.2-2,100)
Vesical carcinoma	76.6(95.0-228.0)	202.9(45.0- 765.0)
Vesical carcinoma	Stage A-B	165.0(155.0- 178.0)
	Stage C-D	212.4(45.0- 765.0)
	Grade I-II	236.1(89.0- 442.3)
	Grade III-IV	202.9(54.0- 765.0)

Table 2 Mean value of tissue LDH isoenzyme fractions in vesical carcinoma

Group	V, %	IV, %	III, %	II, %	I, %
Control	2.2(0 -11.3)	21.7(0 -41.7)	41.6(18.2-55.5)	17.4(3.3-38.4)	17.1(0.8-74.4)
Vesical carcinoma	7.6(0 -38.7)	26.0(8.9-44.9)	37.0(24.3-58.6)	15.1(2.7-28.4)	14.3(0 -31.3)
Vesical carcinoma	Stage A-B	22.1(13.0-34.6)	36.5(24.3-51.3)	16.4(11.5-19.5)	19.5(0 -31.3)
	Stage C-D	28.2(8.9-44.9)	37.3(26.4-56.8)	14.4(2.7-28.4)	11.4(0.9-30.0)
	Grade I-II	17.7(13.0-22.4)	35.3(33.6-37.1)	17.3(16.0-18.0)	23.3(22.4-24.2)
	Grade III-IV	27.9(8.9-44.9)	37.4(24.3-56.8)	14.6(2.7-28.4)	12.3(0 -31.3)

これらのことは第Ⅲ分画は膀胱癌組織についてみる限り対照に比し低い割合を示し、また悪性度、進展度との間にははっきりした関係をもたないといえる成績であった。

第Ⅱ分画についてみると対照部分は3.3～38.4%にあり、その平均は17.4%を占めた。これに対し、腫瘍部分では2.7～28.4%に分布し、その平均は15.1%を示した。病期との関係をみるとA～Bでは11.5%より19.5%を占め、その平均は16.4%を、またC～Dでは2.7%より28.4%と広い範囲に分布したが、その平均では14.4%と病変の進展に伴う変動はみられなかった。悪性度との関係をみるとI～IIでは16.0%より18.0%に分布し、その平均は17.3%を示し、またIII～IVでは2.7%より28.4%に分布し、その平均は14.6%を示したことは分化度とこの分画比との間に関係のないことを示すものである。

第Ⅰ分画についてみると対照部分は0.8%より74.4%と広い範囲に分布し、その平均は17.1%であった。これに対し腫瘍組織では0%より31.3%と広い範囲に分布し、その平均は14.3%を示した。病期との関係をみるとA～Bでは0%より31.3%にあり、その平均は19.5%を、またC～Dでは0.9%より30.0%にあり、その平均は11.4%を占めた。このことは膀胱癌組織では対照に比し第Ⅰ分画が少なく、また病期の進行に伴ってその占める割合が減少することを示している。また悪性度でもI～IIでは22.4～24.2%を、III～IVでは0～31.3%に分布し、その平均はそれぞれ23.3%、12.3%と悪性化に伴って第Ⅰ分画の減少がみられ

た。

Ⅲ. alkaline phosphatase (ALP)

対照部分では34.2 KAUより2,100 KAUに分布し、その平均は315.1 KAUを示したのに対し、腫瘍部分は45 KAUにより765 KAUに分布し、その平均は202.9 KAUであった。しかし2,100 KAUを示した1例を除けば対照の平均は226.6 KAUとなり、両者に差をみとめなかった。病期との関係をみるとA～Bでは155 KAUより178 KAUを示し、その平均は165 KAUであったのに対し、C～Dでは45 KAUより765 KAUにあり、その平均は212.4 KAUであった。悪性度との関係をみるとI～IIでは89～442 KAUに、III～IVでは54～765 KAUにあり、その平均はそれぞれ236、203 KAUで分化度とALP活性の間にはっきりした関係はなかった。

考 按

腫瘍組織について酵素を測定したものとしてはGreenstein (1954), Richterich (1958)をはじめ多くの報告があり、尿路性器腫瘍についてのLDH活性を測定したものとしては、森(1966), Bär (1963), Hradec ら (1955), 仁平 (1967) などがあり、これらのいずれもが腫瘍組織でその活性が高いとしている。著者の今回の膀胱癌組織に限ってみた成績でも確かに対照部分より高い活性を示していた。さらに病期との関係でみると、このことがより明確で、浸

潤度 A, B に比し C, D では高い活性を示した。しかし悪性度との関係でみると悪性であるはずの分化度Ⅲ, IVでは I, II に比し逆に低い活性を示しており, Hradec (1965) ののべる間質量とともに腫瘍組織の中心壊死といったこととも関係したものと考える。

悪性腫瘍組織において嫌気性解糖の増大することは MacBeth & Bekesi (1962), Goldman ら (1963, 1964), Nisselbaum & Bodansky (1963), 石部 (1967), 仁平 (1967) によって知られるところであるが, 今回の成績でも同様の事実がみられた。しかし本実験では対照として用いた組織が全く腫瘍と関係がなかった健常の部分であったか否かは, いわゆる乳頭腫症と称される病変が尿路系にはみられることから問題を残すものである。LDH 活性のみならず第 V 分画においてかなりの部分で成績の重なりがあり, ときには健常部でも第 V 分画の増大がみられたことは Starkweather ら (1962) 先人の成績からすればこの部分に腫瘍性変化が潜在する可能性なし腫瘍発生に先行する変化の存在も否定できぬところであろう。また腫瘍組織にも正常の部分が含まれうるであろうし, 赤血球の混在の可能性も否定できず, これらが成績の重なりをきたす原因の一部であろうと考えられる。

しかし悪性度の強い例ないし進行した症例で必ずしも第 V 分画の増大がみられなかったことは, 腫瘍組織の LDH isoenzymes pattern が幼若細胞に類似しないとした服部 (1965) の意見とともに, 発癌の初期の変化が悪性腫瘍に特有な変化であるとする説を注目すべきであろう。

他方第Ⅲ分画が悪性腫瘍組織において増加することは Pfeleiderer ら (1961), Starkweather & Schoch (1962) が明らかにしたことで, この H_2M_2 が胎生期に近い pattern ないし新生生物組織に特有な蛋白構造を示すとした。今回の著者の成績では逆にこの分画は対照に比しやや低い割合を示し病期, 悪性度とも関係を有しなかったことは DeRoeth (1957) に反し, Goldman (1964) の意見と一致するものである。

第 I, II 分画は好気性解糖に関係する部分で

あり, 悪性腫瘍ではあまり問題にされていないが, 今回の実験では第 II 分画は対照と差が少ないが, これに対し第 1 分画では腫瘍部分で少なく, 病期とともに減少する傾向を示した。このことは第 V 分画があまり診断的価値をもたなかったこととともに本分画の意味も少なくないと考える。

phosphatase は多くの臓器に含まれるものであるが前立腺癌でよく検討され Bodansky ら (1940), 落合・竹内 (1967) は前立腺癌で骨転移と血中 ALP がよく一致するとした。腎腫瘍での著者の成績では一般に腫瘍部分は ALP 活性の強い低下がみられたが, これは腎に ALP が多いことと関係したものであると考えられる。しかし膀胱癌についての森 (1966) の組織化学的研究によると腫瘍上皮細胞ならびに間質のいずれも ALP 活性は少なく, また分化度とも関係しないとしているが, 今回の成績でも対照との間に差をみとめなかったし病期, 悪性度との間にもなんらの関係を見いだしえなかった。

結 語

広島大学医学部附属病院泌尿器科において手術的に摘出された膀胱癌組織 28 例と腫瘍におかされていると思われる部分をもつ 16 例について LDH, LDH isoenzymes, ALP を測定するとともに病期 (Jewett), 悪性度 (Broders) の面から検討し次の結果をえた。

(1) 膀胱癌組織は高い LDH 活性を示し, 病期の進展に伴って活性が増大したが, 分化度との関係は逆に未分化型で低い活性を示すものが多かった。

(2) LDH isoenzymes についてみると第 V 分画は癌組織では対照部分に比し高い割合を占めたが病期, 組織学的悪性度との関係はなかった。第 IV 分画も第 V 分画と同様の態度を示したが, この分画では未分化型が分化型に比し高い割合を占めた。第Ⅲ分画は癌組織が対照部分より低い割合を占め, 悪性度, 分化度との間にもはっきりした関係はみられなかった。第 II 分画は対照部分と癌組織の間のみならず病期の進展, 悪性化に伴う変動は少なかった。第 1 分画

は癌組織では対照より低い割合を示し悪性化に伴ってこの分画比の減少がみられた。

（3）ALPは腫瘍部分と対照との間に差を認めず、分化度および病変の進行度に伴う変動はみられない。

文 献

- 1) Bär, U., Schmidt, E. und Schmidt, F. W. : Enzym-Muster und Isozyme menschlicher Tumoren. *Klin. Wschr.*, **41** : 68, 1963.
- 2) Bierman, H. R., Hill, B. R., Reinhardt, L. and Emory, E. : Correlation of serum lactic dehydrogenase activity with the clinical status of patients with cancer, lymphomas, and the leukemias. *Cancer Res.*, **17** : 660, 1957.
- 3) Bodansky, M. and Bodansky, C. : Disease of bone. *Biochemistry of disease*. Chapt. 12, p. 410. The Macmillan Co., New York, 1940.
- 4) Broders, A. C. : Epithelioma of genitourinary organs. *Ann. Surg.*, **75** : 574, 1922.
- 5) DeDoetth, H. : Chemical characteristics and varying degrees of malignancy in tumors of the human ovary. 1. Oxygen consumption and lactic acid production. *Cancer Res.*, **17** : 833, 1957.
- 6) Goldman, R. D. and Kaplan, N. O. : Alterations of tissue lactate dehydrogenase in human neoplasms. *Biochim. Biophys. Acta*, **77** : 515, 1963.
- 7) Goldman, R. D., Kaplan, N. O. and Hall, T. C. : Lactic dehydrogenase in human neoplastic tissues. *Cancer Res.*, **24** : 389, 1964.
- 8) Greenstein, J. P. : *Biochemistry of cancer*. 2nd ed., Academic Press, New York, 1954.
- 9) Hattori, S. : 癌の血清酵素学的診断. *臨床科学*, **1** : 854, 1965.
- 10) Hradec, E., Motlik, K., Marek, J., Pavlu, J. und Sula, J. : Aktivität der Lacticodehydrogenase im Gewebe der Blasentumoren. *Urologe*, **4** : 93, 1955.
- 11) Iatron : Technical Bulletin RM-103.
- 12) Ishibe, T. : Urogenital neoplasms and enzymes. III. Tissue LDH, ALP, LAP, TAP and PAP activities and LDH isozymes of neoplasms of the genitourinary organs. *Acta Urol. Jap.*, **13** : 717, 1967.
- 13) Ishizu : Technical Bulletin 101.
- 14) Jewett, H. J. : Infiltrating carcinoma of bladder : Application of pathologic observations to clinical diagnosis and prognosis. *J. A. M. A.*, **134** : 496, 1947.
- 15) MacBeth, R. A. L. and Bekesi, J. G. : Oxygen consumption and anaerobic glycolysis of human malignant and normal tissue. *Cancer Res.*, **22** : 244, 1962.
- 16) Mori, M. : *Enzyme histochemistry in tumor*. Igaku-Shoin, Tokyo, 1966.
- 17) Nihira, H. : Enzymological studies of urogenital tumors. *Dermatology and Urology*, **29** : 249, 1967.
- 18) Nisselbaum, J. S. and Bodansky, O. : Purification, kinetic, and immunochemical studies of the major variants of lactic dehydrogenase from human liver, hepatoma, and erythrocytes. Comparison with the major variant of human heart lactic dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, **238** : 969, 1963.
- 19) Ochiai, K. and Takeuchi, H. : Peculiarities of metastases in the prostatic carcinoma. *Jap. J. Cancer Clin.*, **13** : 253, 1967.
- 20) Pfeleiderer, G. und Wachsmuth, E. D. : Die Heterogenität der Lactatdehydrogenases in Entwicklungsgeschichte und Pathologie des Menschen. *Biochem. Zschr.*, **339** : 185, 1961.
- 21) Richterich, R. : *Enzymopathologie*. Springer Verl., Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1958.
- 22) Starkweather, W. H. and Schoch, H. K. : Some observations on lactate dehydrogenase of human neoplastic tissue. *Biochim. Biophys. Acta*, **62** : 440, 1962.
- 23) Warburg, O., Posener, K. und Negelein, E. : Über den Stoffwechsel der Karzinomzelle. *Biochem. Zschr.*, **152** : 309, 1924.
- 24) Yasin, R. and Bergel, L. : Lactate dehydrogenase isoenzyme patterns in human normal and malignant gastric mucosa. *Europ. J. Cancer*, **1** : 203, 1965.

(1969年11月6日受付)